

本文引文格式: 韦建开, 廖长秀, 陶莹, 等. 广西百色市及其周边人群 LAG-3 基因多态性与原发性肝癌易感性的关系[J]. 右江民族医学院学报, 2021, 43(1): 41-45, 65.

【论著与临床报道】

广西百色市及其周边人群 LAG-3 基因多态性 与原发性肝癌易感性的关系

韦建开¹, 廖长秀², 陶莹¹, 刘帅廷¹

(1. 右江民族医学院基础医学院, 广西 百色 533000;
2. 右江民族医学院药学院, 广西 百色 533000)

摘要:目的 探讨广西百色市及其周边人群淋巴细胞活化基因-3(LAG-3)基因单核苷酸多态性 rs1882545 与原发性肝癌(PLC)发生的关系。方法 收集广西百色市及其周边人群 PLC 患者和健康对照者各 300 例, 提取外周血白细胞 DNA, 采用多重扩增及高通量测序方法检测 LAG-3 rs1882545 位点等位基因并进行基因分型, 用非条件 Logistic 回归计算比值比(odds ratio, OR)及其 95% 可信区间(95% CI), 评估各等位基因、基因型分布频率与原发性肝癌发病风险的关系; 此外, 也分析健康对照组 LAG-3 rs1882545 位点的基因型和等位基因频率分布与中国南方汉族、北京汉族、日本东京、尼日利亚、意大利托斯卡尼等人群是否存在差异。结果 广西百色市及其周边健康对照人群 LAG-3 rs1882545 位点等位基因和基因型分别以 G(70.57%)和 GG(50.50%)为主, 分布频率与中国南方汉族和尼日利亚人群比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 但与北京汉族、日本东京、意大利托斯卡尼比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。PLC 组与健康对照组 LAG-3 rs1882545 位点的基因型、等位基因型比较差异无统计学意义($P > 0.05$); PLC 组与健康对照组男性 LAG-3 rs1882545 位点的基因型、等位基因型比较差异无统计学意义($P > 0.05$); PLC 组与健康对照组女性 LAG-3 rs1882545 位点的基因型比较差异无统计学意义($P > 0.05$); PLC 组与健康对照组 < 55 岁、 ≥ 55 岁 LAG-3 rs1882545 位点的基因型、等位基因型比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 但女性 PLC 组 A 等位基因频率(42.31%)明显高于相应健康对照组(27.27%), 与患 PLC 有关联($P = 0.042$, $OR = 1.959$, 95% $CI : 1.017 \sim 3.771$)。结论 LAG-3 rs1882545 A 等位基因可能与广西百色市及其周边女性人群 PLC 易感性有关。

关键词: 百色市及其周边; LAG-3; 基因多态性; 原发性肝癌

中图分类号: R735.7 文献标识码: A 文章编号: 1001-5817(2021)01-0041-06
doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.01.009

Relationship between LAG-3 polymorphism and susceptibility to primary liver cancer in the population in Baise City and its surrounding areas of Guangxi

Wei Jiankai¹, Liao Zhangxiu², Tao Ying¹, Liu Shuaiting¹

(1. School of Basic Medicine, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China; 2. College of Pharmacy, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relation between the single nucleotide polymorphisms (SNPs) (the rs1882545 loci) of LAG-3 genes and the primary liver cancer (PLC) in the population of Baise City and its surrounding areas of Guangxi. **Methods** A total of 300 PLC patients and 300 healthy controls were collected from Baise and its surrounding areas. After extracting the DNA of peripheral blood leukocytes, we detected and genotyped the alleles at LAG-3 rs1882545 loci by multiple amplification and high-throughput sequencing.

基金项目: 国家自然科学基金(81660642); 广西肝胆疾病临床医学研究中心研究课题(桂科 AD17129025)

第一作者简介: 韦建开(1988-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 肝脏疾病发病机制和防治研究, E-mail: 704775648@qq.com

通讯作者简介: 廖长秀(1977-), 女, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 肝脏疾病发病机制和防治研究, E-mail: liaozhan-gxiu@163.com

Unconditional Logistic regression was used to calculate the odds ratio (OR) and 95% confidence interval (95% CI). Meanwhile, our research evaluated the relation between the distribution frequency of these alleles and genotypes and the risk of primary liver cancer. Furthermore, the genotypes and alleles frequency distribution of LAG-3 rs1882545 locus in healthy control group were analyzed, comparing with the populations in Southern Han Chinese, Han Chinese in Beijing, Japanese in Tokyo, Nigerian and Toscani in Italy. **Results** G (70.57%) and GG (50.50%) were respectively the main alleles and genotypes of LAG-3 rs1882545 loci in healthy control population in Baise and its surrounding areas of Guangxi, and their distribution frequency was not significantly different from that of Han ethnic population in southern China and that of Nigerian population ($P > 0.05$). However, their distribution frequency was significantly different from that of Han ethnic population in Beijing, that of population in Tokyo of Japan and that of the population in Toscani of Italy ($P < 0.01$). There was no significant difference in genotypes and alleles of LAG-3 rs1882545 loci between the PLC group and the healthy control group ($P > 0.05$). There was no significant difference in genotypes and alleles of LAG-3 rs1882545 loci in males between the PLC group and the healthy control group ($P > 0.05$). There was no significant difference in the genotype of LAG-3 rs1882545 loci in females between the PLC group and the healthy control group ($P > 0.05$). There was no significant difference in genotypes and alleles of LAG-3 rs1882545 loci in population with the age < 55 years old and ≥ 55 years old between the PLC group and the healthy control group ($P > 0.05$). The frequency of A gene in female in PLC group (42.31%) was significantly higher than that of healthy control group (27.27%), associating with PLC susceptibility ($P = 0.042$, OR = 1.959, 95% CI : 1.017 ~ 3.771). **Conclusion** Alleles of LAG-3 rs1882545 may be related to PLC susceptibility of female population in Baise and its surrounding areas of Guangxi.

Key words: Baise City and its surrounding areas; LAG-3; gene polymorphism; primary liver cancer

原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)在全球癌症死亡率中排名第四, 占所有癌症死亡人数的 8.2%^[1], 是我国发病率和死亡率相对较高的恶性肿瘤之一。PLC 属于高度免疫抑制型肿瘤, 突变负荷和免疫原性较高, 肿瘤边缘存在一定数量的 T 细胞浸润, 但是肿瘤中心 T 细胞的数量一般较少, 且浸润 T 细胞常常处于功能耗竭状态^[2-3]。T 细胞耗竭的主要特征为其表面负性共刺激分子表达水平升高, 相关细胞因子分泌减少和效应 T 细胞杀伤能力下降, 导致肿瘤细胞出现免疫逃逸而促进肿瘤的发生发展。因此, 肝癌患者免疫负性共刺激分子的功能可能与肝癌发生密切相关。

淋巴细胞活化基因-3 (lymphocyte activation gene-3, LAG-3) 分子为重要的负性共刺激分子之一, 多表达于活化的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞。已经有研究发现, LAG-3 的表达与 PLC 有相关性, 且肝癌组织上的表达远高于癌旁组织^[4]。在 PLC 患者 TIL 中的 CD8⁺ T 细胞表面表达较外周血淋巴细胞显著增高。已有研究报道肝癌患者其他免疫负性共刺激分子如细胞程序性死亡受体-1 (programmed death 1, PD-1)、T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白-3 (T cell immunoglobulin and mucin domain-3, TIM-3) 单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 与肝癌易感性密切相关^[5-6], 但关于 LAG-3 SNP 与肝癌之间的关系尚未见报道。本文收集广西百色市及其周边地区 PLC 患者及健康对照者各 300 例, 采用多重 PCR 及高通量测序

法测定两组人群 DNA LAG-3 rs1882545 等位基因, 分析两组人群 LAG-3 rs1882545 位点等位基因和基因型分布频率是否存在差异, 以探讨 LAG-3 在肝癌发生发展中作用, 为肝癌易感人群的筛选提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象 查阅病例, 收集籍贯为广西百色市或百色市周边并且于 2018 年 9 月—2020 年 7 月在右江民族医学院附属医院住院的 PLC 患者 300 例, 其中男性 261 例, 女性 39 例, 年龄为 23~75 岁, 平均年龄为 (51.2±11.1) 岁, < 55 岁者 191 例, ≥ 55 岁者 109 例; 同时收集肝炎项目检查正常即无肝炎性感染且 AFP、AST、ALT、血常规各项指标正常 300 例为对照组, 其中男性 255 例, 女性 45 例, 年龄为 23~82 岁, 平均年龄为 (51.9±9.0) 岁, < 55 岁者 184 例, ≥ 55 岁者 116 例。两组对象在平均年龄、性别、年龄构成方面差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。所有入选样本均为互无血缘关系的广西百色市及其周边人群。根据知情同意原则, 告知患者家属研究目的及风险等, 取得同意并签署知情同意书, 本研究经过右江民族医学院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 采集外周血 2 ml, 按试剂盒说明采用倍沃医学科技公司血液基因组提取试剂盒 (批号: 231101200708) 提取外周血白细胞中的基因组 DNA。肝癌组样本所提取 DNA 浓度在 11.50~338.20 ng/ μ l 之间, 对照组样本所提取 DNA 浓度大

部分在 10.65~349.75 ng/ μ l 之间,提取所得的 DNA 完整性用琼脂糖电泳进行鉴定,所得 DNA 样本均符合送检要求。

1.2.2 LAG-3 rs1882545 基因分型采用多重扩增及高通量测序方法进行设计并合成好适合 rs1882545 SNP 位点的引物,上游引物为:5'-TGAGCCGTCTA-CATAAAACAGTTGA-3',下游引物为:5'-GATA-ATACATCTCCTGAAGGCCAAT-3'。通过两步 PCR 的方法完成目标 SNP 位点序列的扩增和兼容 Illumina 测序文库的制备。第一轮 PCR 体系如下:DNA 模板(10 ng/ μ l)2 μ l、上游(10 μ M)和下游引物(10 μ M)各 1 μ l 和 2 \times PCR Ready Mix 15 μ l(总体积 25 μ l)(Kapa HiFi Ready Mix)。在 PCR 仪(BIO-RAD, T100TM)上执行扩增检测,循环参数设定如表 1(第一轮第 1 次和第 2 次),PCR 反应完成后,使用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,确定产物大小正确,使用 AMPure XP 磁珠纯化回收 PCR 产物。然后以第一轮 PCR 产物为模板执行第二轮 PCR 反应,以获得测序带分子标签的文库。反应体系如下:DNA 模板(10 ng/ μ l)2 μ l、通用 P7 引物(含分子标签,10 μ M)1 μ l、通用 P5 引物(10 μ M)1 μ l 和 2 \times PCR Ready Mix 15 μ l(总体积 30 μ l)。配制好反应体系后,执行如下 PCR 程序如表 1(第二轮)。最终 PCR 产物使用 AMPure XP 磁珠纯化回收,使用 HiSeqX-Ten 测序仪(Illumina, San Diego, CA)进行测序。设置软件参数,进行数据质控,筛选、删除、比对、分析等,得出目标基因型结果,再通过软件对突变位点进行基因注释。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计分析。用拟合优度 χ^2 检验检测基因型分布是否符

表 1 各步 PCR 循环参数设定情况

步骤	预变性	变性	退火	延伸	循环数	
第一轮						
第一次	温度 98 $^{\circ}$ C 时间 3 min	98 $^{\circ}$ C 30 s	50 $^{\circ}$ C 30 s	72 $^{\circ}$ C 30 s	8 cycle	
第二次	温度 时间	98 $^{\circ}$ C 30 s	66 $^{\circ}$ C 30 s	72 $^{\circ}$ C 30 s \rightarrow 5 min	25 cycle	
第二轮	温度 时间	98 $^{\circ}$ C 5 min	94 $^{\circ}$ C 30 s	55 $^{\circ}$ C 20 s	72 $^{\circ}$ C 30 s \rightarrow 5 min	5 cycle

合 Hardy-Weinberg 平衡;用 χ^2 检验先检测等位基因和基因型在 PLC 组和对照组的频率分布差异,用非条件 Logistic 回归计算比值比(odds ratio, OR)及其 95%可信区间(95% CI)评价各等位基因、基因型与 PLC 发生的关系。利用 Ensembl 网站(<http://asia.ensembl.org/>)公布的 5 个地区人群(中国南方汉族、北京汉族、日本东京、尼日利亚和意大利托斯卡尼人群)基因多态性 rs1882545 位点基因型和基因分布频率结果,采用 χ^2 检验分析广西百色市及其周边人群与这些人群该位点基因型和等位基因频率的分布差异,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 健康对照人群 LAG-3 rs1882545 等位基因分布及与其他国家(地区)人群的比较 广西百色市及其周边健康对照人群 LAG-3 rs1882545 位点除 1 例未测出基因型,余 299 例 DNA 样本均测出,以 G 等位基因为主,占 70.57%,GG、GA、AA 3 种基因型分布频率分别为 50.50%、40.13%、9.37%,符合 Hardy-Weinberg 平衡。LAG-3 rs1882545 位点基因型和等位基因频率与中国南方汉族和尼日利亚人群比较差异无统计学意义($P > 0.05$),但与北京汉族、日本东京、意大利托斯卡尼比较差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 2。

表 2 不同种族及地区人群 LAG-3 rs1882545 位点多态性分布频率的比较

人群	n	基因型			χ^2	P	基因型		χ^2	P
		GG	GA	AA			G	A		
百色市及其周边	299	151(50.50)	120(40.13)	28(9.37)			422(70.57)	176(29.43)		
中国南方汉族	105	55(52.38)	39(37.14)	11(10.48)	0.330	0.848	149(70.95)	61(29.05)	0.011	0.916
北京汉族	103	67(65.05)	34(33.01)	2(1.94)	9.661	0.008	168(81.55)	38(18.45)	9.466	0.002
日本东京	104	73(70.19)	31(29.81)	0(0.00)	17.317	<0.001	177(85.10)	31(14.90)	17.064	<0.001
尼日利亚	99	41(41.41)	49(49.50)	9(9.09)	2.814	0.245	131(66.16)	67(33.84)	1.362	0.243
意大利托斯卡尼	107	18(16.82)	50(46.73)	39(36.45)	57.319	<0.001	86(40.19)	128(59.81)	62.109	<0.001

注:表内计数资料数据用[n(%)]表示。

2.2 PLC 人群 LAG-3 rs1882545 等位基因分布与健康对照人群的比较 广西百色市及其周边 PLC 人群 300 例 DNA 样本均测出 LAG-3 rs1882545 位点等位基因,GG、GA、AA 3 种基因型分布频率分别为 45.00%、45.67%、9.33%,符合 Hardy-Weinberg 平

衡。 χ^2 检验比较两组基因型及等位基因 rs1882545 分布频率,发现两组差异无统计学意义($P > 0.05$)。经非条件 Logistic 回归分析,校正性别和年龄因素后结果显示,rs1882545 基因型和等位基因分布频率与 PLC 的患病风险均无关($P > 0.05$)。结果见表 3。

表 3 LAG-3 rs18825454 与 PLC 患病风险的关系

组别	n	基因型			基因型	
		GG	GA	AA	G	A
健康对照组	299	151(50.50)	120(40.13)	28(9.37)	422(70.57)	176(29.43)
PLC 组	300	135(45.00)	137(45.67)	28(9.33)	407(67.83)	193(32.17)
χ^2				2.018		1.051
P				0.365		0.305
OR (95% CI) ^a		1	1.289(0.919~1.807)	1.114(0.626~1.980)	1	1.141(0.892~1.459)

注:①a:是调整性别和年龄因素;②表内计数资料数据用[n(%)]表示。

2.3 LAG-3 rs1882545 与 PLC 易感性的分析 性别分层分析中男性及年龄分层(<55 岁和≥55 岁)PLC 组和健康对照组 LAG-3 rs1882545 等位基因和基因型分布频率差异无统计学意义($P > 0.05$),经非条件 Logistic 回归分析,也与 PLC 的患病风险均无关($P > 0.05$)。结果见表 4 和表 5。广西百色市及其周边地区女性 PLC 组和相应健康对照组 LAG-3 rs1882545

基因型分布频率无统计学差异,但女性 PLC 组 A 等位基因频率明显高于相应健康对照组,经 χ^2 检验计算($\chi^2 = 4.146, P = 0.042$),提示女性携带 A 基因与患 PLC 有关;经非条件 Logistic 回归分析,发现女性人群与患 PLC 的风险有关联($P = 0.042, OR = 1.959, 95\% CI : 1.017 \sim 3.771$),提示携带 A 等位基因患肝癌对本次实验健康人群的风险增加,见表 4。

表 4 LAG-3 rs18825454 与 PLC 患病风险的性别分层分析

组别	n	基因型			基因型	
		GG	GA	AA	G	A
男性						
健康对照组	255	128(50.20)	102(40.00)	25(9.80)	358(70.20)	152(29.80)
PLC 组	261	122(46.74)	118(45.21)	21(8.05)	362(69.35)	160(30.65)
χ^2				1.586		0.088
P				0.453		0.767
OR (95% CI) ^a		1	1.226(0.848~1.755)	0.868(0.461~1.635)	1	1.039(0.796~1.356)
女性						
对照组	45	23(52.27)	18(40.91)	3(6.82)	64(72.73)	24(27.27)
PLC 组	39	13(33.33)	19(48.72)	7(17.95)	45(57.69)	33(42.31)
χ^2				4.119		4.146
P				0.128		0.042
OR (95% CI) ^a		1	1.637(0.623~4.299)	4.169(0.912~19.056)	1	1.959(1.017~3.771)

注:①a:是调整年龄因素;②表内计数资料数据用[n(%)]表示。

表 5 LAG-3 rs18825454 与 PLC 患病风险的年龄分层分析

组别	n	基因型			基因型	
		GG	GA	AA	G	A
<55 岁						
健康对照组	183	93(50.82)	73(39.89)	17(9.29)	259(70.77)	107(29.23)
PLC 组	191	90(47.12)	81(42.41)	20(10.47)	261(68.32)	121(31.68)
χ^2				0.537		0.525
P				0.764		0.469
OR (95% CI) ^a		1	1.141(0.741~1.756)	1.293(0.631~2.647)	1	1.142(0.834~1.563)
≥55 岁						
健康对照组	116	58(50.00)	47(40.52)	11(9.48)	163(70.26)	69(29.74)
PLC 组	109	45(41.28)	56(51.38)	8(7.34)	146(66.97)	72(33.03)
χ^2				2.686		0.564
P				0.261		0.453
OR (95% CI) ^a		1	1.471(0.845~2.562)	0.961(0.356~2.598)	1	1.152(0.771~1.722)

注:①a:是调整性别因素;②表内计数资料数据用[n(%)]表示。

3 讨论

本研究收集广西百色市及其周边 PLC 患者 300 例,对其进行年龄和性别分层时发现 <55 岁年龄的人群为主,占比为 63.67%,同时以男性患者居多(87.00%),这与林子博等^[7]学者报道的广东顺德地区 PLC 人群男性患者为主且年龄在 22~55 岁居多相一致。众所周知慢性乙型病毒性肝炎(乙肝)是 PLC 发病的独立危险因素^[8];刘慧妮^[9]曾报道广西百色市乙肝感染人群以男性居多,而且年龄以 20~55 岁占大比例,提示慢性乙肝可能是广西百色市及其周边人群 PLC 患者以男性居多且呈年轻化的原因。这与文献报道我国肝癌患者男性远高于女性,年龄呈年轻化,已由原来的 40~50 岁提前至 35~50 岁的结果相一致^[10]。

LAG-3 也称 CD223,分子量为 70 kDa,定位于人 12 号染色体(12 p13.3)。作为免疫检查点家族的一员,LAG-3 是 T 细胞功能的抑制性分子,多种肿瘤微环境中存在异常表达,参与肿瘤的免疫逃逸,进一步促进肿瘤的发生发展^[11]。有研究报道肝癌肿瘤浸润淋巴细胞上 LAG-3 阳性表达为 65.00%,可能在肝癌发生发展中具有重要的作用^[12]。已知 SNP 可使基因结构或表达量发生变化,在个体对某些药物的反应、对环境因素(如毒素)的敏感性、发展特定疾病的风险(特别是个体肿瘤遗传易感性)等方面发挥重要的作用^[13]。目前研究 LAG-3 基因多态性较少。已有研究报道 LAG-3 rs19922452、rs951818 和 rs870849 基因多态性与多发性硬化的易感性相关,rs19922452 TT、rs951818 GG 和 rs870849 CT 基因型使多发性硬化的风险降低^[14]。刘爱娟^[15]通过聚合酶链反应-限制性片段长度多态性方法(PCR-RFLP)分析 CD4 基因 rs2515733 多态性位点基因频率和 LAG-3 基因 rs870849 多态性位点基因频率在特发性血小板减少性紫癜患者组与对照组之间无显著差异。这些研究表明 LAG-3 的不同位点在同一疾病、同一个位点与不同疾病的关联性均具有差异性。

本研究收集广西百色市及周边健康对照者和 PLC 患者各 300 例,采用多重扩增及高通量测序测定 LAG-3 rs1882545 位点等位基因。结果发现广西百色市及其周边健康对照人群 LAG-3 rs1882545 位点,以 G 等位基因为主,占 70.57%,GG、GA、AA 3 种基因型分布频率分别为 50.50%、40.13%、9.37%,基因型和等位基因分布频率与中国南方汉族和尼日利亚人群比较差异无统计学意义,提示本研究的基因分型方法具有一定的可信性。本研究结果也发现本文健康对照人群 LAG-3 rs1882545 基因型和等位基因分布频率与北京汉族、日本东京、意大利托斯卡尼比较差异有统计学意义,提示 LAG-3rs1882545 基因多态性具有种族和地

域差异。

本研究发现在不分层或年龄分层或男性广西百色市及其周边人群 LAG-3 rs1882545 等位基因和基因型分布频率 PLC 患者与健康对照患者比较差异无统计学意义,但在女性人群中 PLC 患者 A 等位基因频率(42.31%)明显高于健康对照人群(27.27%),差异有统计学意义,且携带 A 等位基因患 PLC 风险明显增加($OR = 1.959, 95\% CI : 1.017 \sim 3.771$)。由于纳入本次研究的女性病例数较少,需要增加更多的女性病例数进一步来确认其相关性。

综上所述,本研究发现广西百色市及其周边人群中以男性年龄 25~55 岁为主,LAG-3 rs1882545 基因型、等位基因分布频率具有种族和地域差异,LAG-3 rs1882545 A 等位基因可能与广西百色市及其周边女性人群 PLC 易感性有关,为广西百色市及其周边地区女性肝癌易感人群的筛选提供一定的理论依据。由于本次研究病例来源和病例数的局限性,需要后续增加病例数来进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Yin L, He N, Chen CZ, et al. Identification of novel blood-based HCC-specific diagnostic biomarkers for human hepatocellular carcinoma[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1):1908-1916.
- [2] Schumacher TN, Schreiber RD. Neoantigens in cancer immunotherapy[J]. *Science*, 2015, 348(6230):69-74.
- [3] Wherry EJ, Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(8):486-499.
- [4] 关同闻. 探讨 LAG-3 在肝细胞肝癌组织中的表达情况及其临床意义[D]. 大连:大连医科大学, 2019.
- [5] Masateru Y, Tsuyoshi K, Hiroaki M, et al. PD1 gene polymorphism is associated with a poor prognosis in hepatocellular carcinoma following liver resection, cohort study[J]. *Int J Surg*, 2020, 80:84-90.
- [6] Fang HY, Yuan C, Gu XS, et al. Association between TIM-3 polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(20):550.
- [7] 林子博, 祁永芬, 周新风, 等. 广东顺德地区原发性肝癌发病危险因素研究[J]. *中华疾病控制杂志*, 2017, 21(10):993-996, 1001.
- [8] 焦娇, 郭意男, 章国君, 等. 乙肝肝硬化进展原发性肝癌的危险因素研究[J]. *预防医学*, 2019, 31(4):363-366, 370.
- [9] 刘慧妮. 2013~2015 年广西百色市乙型肝炎发病状况分析[J]. *右江民族医学院学报*, 2016, 38(4):428-429.

(下转第 65 页)

- mation in Parkinson's disease[J]. *Neurobiol Dis*, 2018, 109(Pt B):249-257.
- [18] Sherwin E, Rea K, Dinan TG, et al. A gut (microbiome) feeling about the brain[J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2016, 32(2):96-102.
- [19] Braak H, Tredici KD, Rüb U, et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2003, 24(2):197-211.
- [20] Liu BJ, Fang F, Pedersen NL, et al. Vagotomy and Parkinson disease: A Swedish register-based matched-cohort study[J]. *Neurology*, 2017, 88(21):1996-2002.
- [21] Svensson E, Horváth-Puhó E, Thomsen RW, et al. Vagotomy and subsequent risk of Parkinson's disease[J]. *Ann Neurol*, 2015, 78(4):522-529.
- [22] Sun MF, Zhu YL, Zhou ZL, et al. Neuroprotective effects of fecal microbiota transplantation on MPTP-induced Parkinson's disease mice: Gut microbiota, glial reaction and TLR4/TNF-alpha signaling pathway[J]. *Brain Behav Immun*, 2018, 70:48-60.
- [23] Bailey MT, Coe CL. Maternal separation disrupts the integrity of the intestinal microflora in infant rhesus monkeys[J]. *Dev Psychobiol*, 1999, 35(2):146-155.
- [24] Borzabadi S, Oryan S, Eidi A, et al. The effects of probiotic supplementation on gene expression related to inflammation, insulin and lipid in patients with Parkinson's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Arch Iran Med*, 2018, 21(7):289-295.
- [25] Choi HW, Abraham SN. Mast cell mediator responses and their suppression by pathogenic and commensal microorganisms[J]. *Mol Immunol*, 2015, 63(1):74-79.
- [26] Tsai YT, Cheng PC, Pan TM. The immunomodulatory effects of lactic acid bacteria for improving immune functions and benefits[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 96(4):853-862.
- [27] Garcia SM, Zhou W, Freed CR. 2461 Increasing butyrate levels by microbial manipulation or drug administration to delay Parkinson's disease progression[J]. *CTS-CLIN Transl Sci*, 2018;15.
- [28] Sharma S, Taliyan R, Singh S. Beneficial effects of sodium butyrate in 6-OHDA induced neurotoxicity and behavioral abnormalities: Modulation of histone deacetylase activity[J]. *Behav Brain Res*, 2015, 291:306-314.
- [29] Sampson TR, Debelius JW, Thron T, et al. Gut microbiota regulate motor deficits and neuroinflammation in a model of Parkinson's disease[J]. *Cell*, 2016, 167(6):1469-1480.
- [30] Ait-Belgnaoui A, Durand H, Cartier C, et al. Prevention of gut leakiness by a probiotic treatment leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2012, 37(11):1885-1895.

收稿日期:2020-06-03;修回日期:2020-07-06

(上接第 45 页)

- [10] 汤庆. 原发性肝癌发病年轻化的原因分析[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2015, 15(53):95.
- [11] 胡晓儒, 杨向红. 免疫检查点 LAG-3 在肿瘤中的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(5):870-873.
- [12] Yarchoan M, Xing DM, Luan L, et al. Characterization of the Immune Microenvironment in Hepatocellular Carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(23):7333-7339.
- [13] Ling H, Vincent K, Pichler M, et al. Junk DNA and the long non-coding RNA twist in cancer genetics[J]. *Oncogene*, 2015, 34(39):5003-5011.
- [14] Zhang Z, Duvefelt K, Svensson F, et al. Two genes encoding immune-regulatory molecules (LAG3 and IL7R) confer susceptibility to multiple sclerosis[J]. *Genes Immun*, 2005, 6(2):145-152.
- [15] 刘爱娟. LAG-3 基因 rs870849 多态性和 CD4 基因 rs2515733 多态性与特发性血小板减少性紫癜易感性之间的联系[D]. 北京:中国协和医科大学, 2008.

收稿日期:2020-12-11;修回日期:2021-01-06